

**BIOLABO**
**www.biolabo.fr**
**FABRICANTE:**
**BIOLABO SAS,**
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

# BIO-FIBRI

## Determinación cronométrica del fibrinógeno

Reactivo para la determinación de la concentración del fibrinógeno en plasma humano

| | | |
|---|---|---|
| REF 13450 | **R1** 6 x 4 mL | **R2** 1 x 125 mL |
| REF 13451 | **R1** 6 x 10 mL | **R2** 2 x 150 mL |

**SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS**
**Tel: (33) 03 23 25 15 50**
**Fax: (33) 03 23 256 256**

CE

**USAGE IN VITRO**



## SIGNIFICACION CLINICA (1) (2)

El fibrinógeno es la principal proteína plasmática que afecta a la velocidad de sedimentación. La concentración plasmática de fibrinógeno está aumentada en casos de inflamación, necrosis tisular, diabetes u obesidad. La administración de estrógenos y el embarazo conducen igualmente a una elevación del fibrinógeno plasmático. Un aumento del fibrinógeno plasmático constituye un factor de riesgo para las enfermedades coronarias o del sistema cerebrovascular.
La disminución de la concentración plasmática de Fibrinógeno se relaciona en general con anomalía del metabolismo hepático (cirrosis, ictericia...) o en caso de fibrinólisis o CID (coagulación intravascular diseminada)

## PRINCIPIO (5) (6)

Técnica basada en trabajos de Von Clauss y Al., validados por Destaing F. y al. En presencia de un exceso de trombina, el tiempo de coagulación de un plasma previamente diluido es inversamente proporcional a la concentración en fibrinógeno.

## REACTIVOS

**Vial R1** **TROMBINA**

Trombina cálcica liofilizada de origen animal.
Caolín (en pequeña cantidad lo que permite mejorar la detección óptica).

**VialR2** **TAMPON DILUYENTE (para plasmas)**

Tampón HEPES 0,02M pH 7,35
Anticoagulante (citrato)
Inhibidor de fibrinólisis

## PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados únicamente a profesionales, para uso in vitro.
- Verificar la integridad de los reactivos antes de su utilización.
- Utilizar equipamientos de protección (bata, guantes, gafas).
- No pipetear con la boca.
- En caso de contacto con la piel o los ojos, enjuagar abundantemente y consultar al médico.
- Los reactivos contienen azida sódica (concentración < 0,1%) que puede reaccionar con metales como el cobre o el plomo de las tuberías. Enjuagar con abundante agua.
- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse por petición.
- Eliminación de los deshechos: respetar la legislación en vigor.

Por medida de seguridad, tratar toda muestra o reactivo de origen biológico como potencialmente infeccioso. Respetar la legislación en vigor.

## REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIO

1. Equipamiento de base del laboratorio de análisis médico.
2. Agua desmineralizada para reconstitución del reactivo.
3. Plasma de referencia.
4. Plasmas de control normal y patológico.
5. Papel milimetrado.

## PREPARACION DE LOS REACTIVOS

- **Trombina**
Utilizar un objeto no cortante (punta de espátula) para levantar la cápsula de aluminio y romperla. Reconstituir con el volumen de agua destilada indicada en la etiqueta.
- **Tampón Diluyente de los plasmas** (listo para el uso)

## ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

**Almacenar a 2-8°C en el vial de origen bien cerrado y protegido de la luz.**
- Antes de abrir:
  Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Después de abrir: (en su vial original o en tubo plástico) :
  Vial R1 (después de la reconstitución):
  - ✓ Por lo menos 24 horas a temperatura ambiente
  - ✓ 7 días a 2-8°C y 30 días a –20°C.

  Vial R2:
  - ✓ Por lo menos 3 meses en ausencia de contaminación
  - ✓ Rechazar todo reactivo turbio.

No utilizar los reactivos si los valores de los controles se encuentran fuera de los límites de confianza recomendados.
No utilizar el reactivo de trabajo después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja.

## TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (6) (2)

**Plasma**

Extraer cuidadosamente la muestra por punción venosa (blue top-citrate):
- Sobre citrato líquido (0,5 ml de citrato sódico 0,13 M y 4,5 ml de sangre).
- Evitar la toma de muestra con jeringas que favorezcan la formación de microcoágulos.
- Centrifugar 10 minutos a 2500 g.

El fibrinógeno es estable en el plasma:
- 4 h a temperatura ambiente
- 18 meses congelado a -70°C

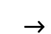
La determinación puede también realizarse sobre **micromuestras de sangre capilar** siempre que se respeten las condiciones de toma de muestra y de determinación estrictas.

## INTERFERENCIAS (2) (3) (8)

Los inhibidores de acción antitrombóticas tales como la heparina, los productos de degradación del fibrinógeno pueden conducir a una sub-estimación. En este caso se debe hacer el test a una dilución superior.
La presencia de un antifibrinolítico en el tampón diluente permite una determinación en el caso de los pacientes bajo tratamiento trombolítico. Diluir la muestra justo después de la toma.
Resultados de los tests de interferencia realizados sobre plasmas (aprox. 2.3 g/L) sobre el BIO SOLEA 4:

| Interferente | Resultados |
|---|---|
| Hemoglobina | No hay interferencia hasta 327 µmol/L |
| Turbidez | No hay interferencia hasta 2% |
| Bilirrubina | Interferencia positiva a partir de 450 µmol/L |

Young D.S. ha publicado una lista de las sustancias que interfieren con la prueba. Ver igualmente Norbert W. Tietz.

 Fabricante  Fecha de caducidad  Uso in vitro   Temperatura de conservación  Referencia del producto  Consultar instrucciones  Numero de lote  Protegido de la luz  Suficiente para  Diluir con

## CONTROL DE CALIDAD

| | | |
|---|---|---|
| REF 13961 | Plasma de Control Tasa 1 | 6 x 1 mL |
| REF 13962 | Plasma de Control Tasa 2 | 6 x 1 mL |
| REF 13963 | Plasma de Control Tasa 3 | 6 x 1 mL |

O cualquier otro plasma de control titulado para este método.

- Programa externo de control de calidad.

Está recomendado controlar en los siguientes casos:

- Al menos un control por rutina.
- Al menos un control cada 24 horas.
- Cambio de vial del reactivo.
- Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.

Cuando un valor de control se encuentra fuera de los límites de confianza recomendados, aplicar las siguientes acciones correctivas:

1. Repetir la operación utilizando el mismo control.
2. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, preparar un plasma de control recién reconstituido y repetir el test.
3. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, calibrar utilizando el mismo vial de plasma de referencia y otro vial de reactivo y repetir el test.
4. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro vial de plasma de referencia o un plasma de referencia recién reconstituido y repetir el test
5. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, contactar el servicio técnico BIOLABO o el distribuidor local.

## INTERVALOS DE REFERENCIA (1) (2)

Metodo de Clauss Fibrinógeno (g/dL) 150 - 400

Estos valores pueden variar en función de la pareja reactivo-instrumento.

Se recomienda a cada laboratorio definir sus propios valores de referencia para la población concernida.

## PRESTACIONES

Estudios realizados con plasmas de control sobre el BIO SOLEA

| Intra-serie N = 20 | Plasma 1 | Plasma 2 | Plasma 3 |
|---|---|---|---|
| Media g/L | 3,17 | 2,58 | 2,33 |
| S.D. g/L: | 0,09 | 0,07 | 0,05 |
| C.V. % : | 2,8 | 2,8 | 1,97 |

| Inter-serie N = 20 | Plasma 1 | Plasma 2 | Plasma 3 |
|---|---|---|---|
| Media g/L | 2,64 | 2,43 | 2,44 |
| S.D. g/L: | 0,12 | 0,12 | 0,10 |
| C.V. % : | 4,5 | 4,73 | 4,15 |

Comparación con reactivo comercial (método sin Kaolin):

40 plasmas situados entre 2 y 4 g/L han sido testados con los 2 reactivos sobre el coagulómetro BIO SOLEA 4:

y = 1,0737 – 0,2185 r= 0,9505

## LIMITE DE LINEALIDAD

Plasma diluido 1/10: la reacción es lineal de 200 a 400 mg/dL en el plasma, es decir tiempos de coagulación comprendidos entre 8 y 25 segundos aproximadamente. Fuera de este intervalo de concentraciones, adaptar las diluciones para quedarse en la zona de precisión óptima:

- Concentración en el plasma < 200 mg/dL: dilución del plasma 1/5
- Concentración en el plasma > 400 mg/dL: dilución del 1/20

## CALIBRACION

La actividad propia de cada lote de trombina depende de la técnica utilizada y de las condiciones de uso. Es recomendado calibrar cada nuevo lote de reactivo.

- Utilizar el plasma de referencia REF 13970 o cualquier otro plasma de referencia re acordado sobre WHO International Standard NIBSC Código: 98/612.
- Efectuar 3 a 5 diluciones de este plasma de referencia, en un tampón de dilución (vial R2). Determinar por triplicado los tiempos de coagulación para cada una de las diluciones
- Técnica al Crochet : Trazar la recta de calibración (ver § cálculos)
- Técnica semi-automática (BIO SOLEA 2, BIO SOLEA 4) : introducir las medias de los tiempos y de las concentraciones correspondientes en el método

Ejemplo de diluciones de un plasma a 330 mg/dl:

| **Diluciones 1/d** | **1/10** | **1/15** | **1/20** |
|---|---|---|---|
| **Plasma (mL)** | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| **Tampón (mL)** | 0,9 | 1,4 | 1,9 |
| **Fibrinógeno (g/L) en la dilución** | 0,330 | 0,220 | 0,165 |

O

- Utilizar la tabla de correspondencia adjunta en la caja.

## MODO DE EMPLEO

**Diluir el plasma a estudiar a 1/10 en tampón Diluyente (vial R2).**

Para los plasmas normales, esta dilución equivale a una concentración en fibrinógeno en el plasma de **200 a 400 mg/dL**, correspondiente a la zona de precisión óptima.

### Técnica al gancho

Poner la trombina en baño María a 37°C y distribuir en tubos de hemólisis. Agitar trombina durante la utilización:

| | |
|---|---|
| Plasma diluido | 0,2 ml |
| Incubar 2 minutos a 37°C | |
| Trombina | 0,2 ml |
| Poner en marcha el cronómetro de forma simultánea, hundir el gancho a intervalos regulares y apuntar el tiempo de coagulación. | |

### Técnica semi-automática (lectura óptica)

Situar la trombina a temperatura ambiente (20-25°C).

Distribuir en los pocillos:

| | |
|---|---|
| Plasma diluido | 0,2 ml |
| Incubar 2 minutos a 37°C | |
| Trombina | 0,2 ml |
| Poner en marcha la medida por el aparato de forma simultánea. | |

Empezar por las 3 diluciones del plasma de referencia (ver § calibración), introducir los tiempos y las concentraciones correspondientes en el método, y luego proceder a las medidas de la misma forma sobre los plasmas de pacientes.

### Técnica automática

Referirse a las instrucciones del fabricante.

<u>**Nota**</u>**: Si los tiempos de coagulación así medidos no están comprendidos entre 8 y 25 segundos**, adaptar las diluciones (ver § **LIMITES DE LINEALIDAD**).

## CALCULO

**Concentración de Fibrinógeno en plasma**

**a partir de la recta de calibración** (VER § **CALIBRACION):**

Sobre papel milimetrado, poner en abscisas (a), la inversa de las diluciones efectuadas (en el ejemplo 10-15-20) y en ordenadas (t), la media de los tiempos de coagulación medidos para cada dilución, se obtiene así la recta de Standard:

$$\text{Fibrinógeno (en mg/dL)} = \frac{F \times d}{a}$$

donde F: Concentración en fibrinógeno del plasma de referencia.
d: Inversa de la dilución (d = 10 si la dilución es 1/10)
a: Valor encontrado en abscisa.

**a partir de la tabla adjunta a la caja:**

En el caso de una dilución a 1/10, la concentración en fibrinógeno puede ser obtenida por simple lectura de la tabla adjunta a la caja.

Si la concentración en fibrinógeno del plasma estudiado impone una dilución diferente de 1/10, tener en cuenta el factor de dilución.

Ejemplos: Para una dilución a 1/20, multiplicar el valor por 2.
Para una dilución a 1/5, dividir el valor por 2.

**Corrección para anticoagulante líquido, hematocrito normal:**

En el caso de toma de muestra efectuada sobre citrato líquido (1 volumen por cada 9 volúmenes de sangre) y para un hematocrito normal, aumentar el resultado al 20%.

**Corrección para anticoagulante líquido, hematocrito anormal:**

La concentración en fibrinógeno plasmático será obtenida multiplicando el resultado encontrado por el siguiente factor de corrección:

$$\frac{10 - (9 \times \text{Hematocrito})}{9 - (9 \times \text{Hematocrito})}$$

## BIBLIOGRAFIA


(1) *TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Curtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p.1133, 1145, 1740-41, 1813, 1846.*
(2) *Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p.404-405*
(3) *YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p.3\260 à 3-261*
(4) *VON CLAUSS A. ACTA HAEMATOLOGICA 1957. **17**, 237-246.*
(5) *DESTAING F-DUZER A. PATHOLOGIE ET BIOLOGIE 1960, **8**, 1615.*
(6) *HURLET A.-JOSSO F: PATHOLOGIE BIOLOGIE 1972, **20**, 3-4,165-173*
(7) *CAEN-LARRIEU-SAMAMA : L'HEMOSTASE, 1968, EXPANSION SCIENTIFIQUE.*
(8) *Technique en hématologie, Flammarion médecine-sciences, 2nd éd . 1978, p.184-186*